

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen

Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Untersuchungen über den
Wirkungsmechanismus von 48/80

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich - Alexander - Universität

zu

Erlangen

Vorgelegt von

Johannes Friedrich Schmid, Zahnarzt

aus Ludwigshafen / Rhein

Dekan: Professor Dr. med. F. Heim

Referent: Professor Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Februar 1959

(Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen)
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Zur Frage des Wirkungsmechanismus eines Histaminfreisetzers (Substanz 48/80)

Von

F. SCHEIFFARTH, E. SCHMID, L. ZICHA und J. F. SCHMID

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. März 1959)



Unter den zahlreichen Substanzen, die zu einer Freisetzung von Histamin und Serotonin führen*, besitzt 48/80, ein Kondensationsprodukt von p-Methoxyphenyl-Äthylamin mit Formaldehyd, die höchste Wirksamkeit. Eigene frühere Untersuchungen ließen jedoch vermuten, daß die pharmakologischen Wirkungen der Substanz 48/80 nicht allein über die Freisetzung von Histamin und Serotonin erklärt werden können^{21, 22}. Durch weitere Untersuchungen sollte geklärt werden, ob eine Entleerung der Histamin- und Serotoninspeicher mit 48/80 die Effekte von Histamin, Serotonin und 48/80 an Meerschweinchen und Ratten beeinflußt.

Methodik

Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 400 bis 600 g sowie Ratten mit 200 bis 250 g Gewicht verwendet.

18 Ratten erhielten täglich 48/80** in steigenden Dosen (100—2000 γ) intraperitoneal. Den überlebenden Tieren wurden am 7. Tag 600—2500 γ 48/80 intravenös, bzw. intrakardial injiziert.

26 Meerschweinchen wurden mit täglichen Mengen von 50 bis 900 γ 48/80 vorbehandelt. Nach 14 Tagen wurde bei den überlebenden Tieren 48/80 in Dosen von 500 bis 1000 γ i. c. appliziert.

Bei 3 Gruppen von je 12 Meerschweinchen erfolgte in der bereits früher beschriebenen Versuchsanordnung die Inhalation mit 1-, 5- und 10%igem 48/80-Aerosol^{3, 14}.

An 12 Meerschweinchen wurde der Einfluß einer kombinierten Vorbehandlung mit 48/80 (5 Tage 100—500 γ pro Tier), 0,8 mg LSD 25 (d-Lysergsäure-diäthylamid)*** und 20 mg Synpen pro Tier auf eine nachfolgende Inhalation mit 10%igem 48/80-Aerosol untersucht.

An weiteren 19 Meerschweinchen wurde der Einfluß einer intraperitonealen Vorbehandlung mit täglichen Dosen von 50 bis 900 γ 48/80 auf das Histamin- und Serotoninasthma untersucht. 12 Meerschweinchen erhielten vor einer Histamin-

* 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 23.

** Für die Beschaffung der Substanz 48/80 danken wir der Ciba AG, Wehr (Baden), für LSD der Fa. Sandoz AG, Basel.

und Serotonininhalation täglich steigende Dosen von 48/80 als Aerosol in 1-, 5- und 10%iger Konzentration.

Ergänzende Versuche mit 48/80, Doryl, Serotonin und Bariumchlorid erfolgten am isolierten Rattenuterus (Methode nach GADDUM⁷).

Ergebnisse

Während der intraperitonealen Vorbehandlung mit steigenden Dosen von 48/80 starben bereits 4 Ratten nach 300 bis 500 γ , 2 Tiere nach 1500 γ . Im Anschluß an die 8tägige Vorbehandlung erhielten die restlichen 12 Tiere 600—2500 γ 48/80 intrakardial bzw. intravenös. Bei sämtlichen Ratten kam es zu einem tödlichen Schock, wobei 10 Tiere innerhalb von 60 sec, 2 Tiere innerhalb von 4 Std starben. Während bei unvorbehandelten Tieren dem Schocktod Cyanose und Dyspnoe und erst sekundär Krämpfe vorausgehen (vgl. ^{21, 22}), stehen beim Vergiftungsbild der 48/80-vorbehandelten Tiere die Krampfreaktionen im Vordergrund. Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch bei den vorbehandelten Meerschweinchen:

Hier starben 3 von 5 Tieren nach 500 γ , 3 von 6 Tieren nach 800 γ und 7 von 8 Meerschweinchen nach 1000 γ 48/80 intrakardial. Die letalen Dosen unvorbehandelter Meerschweinchen und Ratten liegen auch nach früheren Untersuchungen^{21, 22} in der gleichen Größenordnung.

Nach inhalativer Applikation von 48/80 kommt es bei unvorbehandelten Meerschweinchen in Abhängigkeit von der Konzentration des Aerosols zu Dyspnoe, Husten und leichten Krampfreaktionen (Abb. 1a; vgl. auch ²⁵). Ein typischer Status asthmaticus, wie er nach Histamin- oder Serotoninaerosol auftritt, konnte nach 48/80-Inhalation nicht beobachtet werden. Auch bei den Inhalationsversuchen stehen die Krampfreaktionen nach 48/80 im Vordergrund.

Die Inhalationszeiten für das 48/80-Aerosol werden durch tägliche Wiederholung dieses Versuches verlängert (s. Abb. 1b). Den gleichen

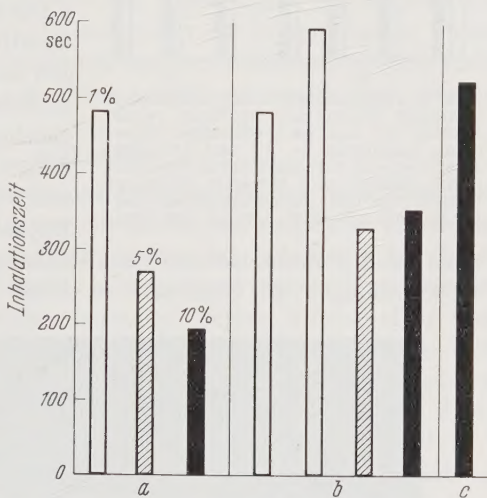


Abb. 1a—c. Expositionszeiten bei Inhalation von 48/80. Beendigung des Versuchs nach jeweils 10 min. a Einmalige Inhalation einer 1-, 5- und 10%igen 48/80-Lösung bei 3 Gruppen von je 12 unbehandelten Meerschweinchen. b Inhalationszeiten bei wiederholter Applikation eines 1-, 5- und 10%igen 48/80-Aerosols bei einer Gruppe von 12 Tieren. c Expositionszeit gegenüber einem 10%igen 48/80-Aerosol nach Vorbehandlung mit 48/80, LSD 25 und Synpen (vgl. Text)

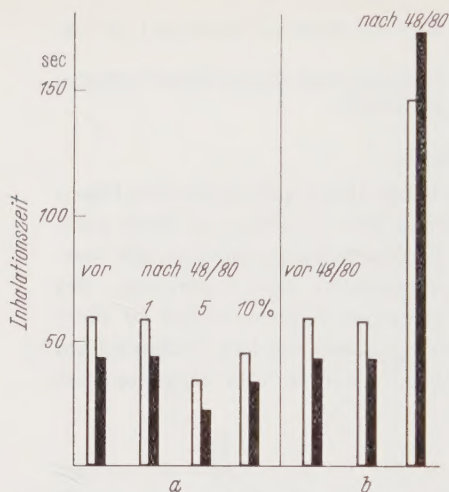


Abb. 2. a Inhalationszeiten von Histamin (schwarze Säulen) und Serotonin (weiße Säulen) vor und nach einmaliger Exposition gegenüber 1-, 5- und 10%igem 48/80-Aerosol. b Exposition von Serotonin (weiße Säulen) und Histamin (schwarze Säulen) vor und nach wiederholter Vorbehandlung mit 48/80-Aerosol (vgl. Text)

amin- und Serotoninaerosol nach einmaliger Inhalation konzentrierter 48/80-Lösungen. Im Gegensatz zu diesen Befunden wurden die Inhala-

Einfluß auf die Inhalationszeit von 48/80 hat eine kombinierte Vorbehandlung mit 48/80, Synpen und LSD 25 (Abb. 1c). Hier kommt es bemerkenswerterweise nicht mehr zu asthmoiden Reaktionen, sondern nur noch zu Krampfanfällen (8 von 12 Tieren, davon 4 mit letalem Ausgang).

Die Inhalationszeiten von Histamin- bzw. Serotoninaerosol wiesen im Verlauf einer intraperitonealen Vorbehandlung mit 50 bis 900 γ 48/80 täglich nur geringe Schwankungen auf. Signifikante Abweichungen gegenüber unvorbehandelten Vergleichsgruppen (vgl. ²⁴) konnten nicht festgestellt werden. Dagegen fand sich eine deutliche Verkürzung der Expositionszeiten gegenüber Hist-

amin- und Serotoninaerosol nach einmaliger Inhalation konzentrierter 48/80-Lösungen. Im Gegensatz zu diesen Befunden wurden die Inhala-

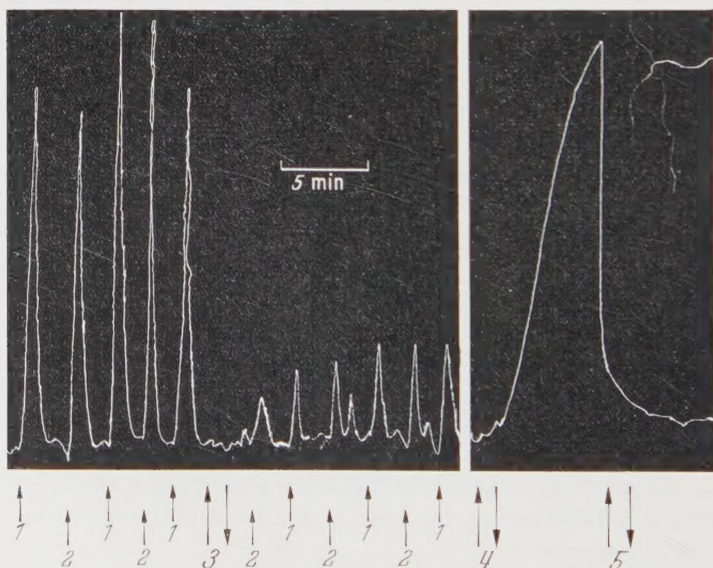


Abb. 3. Isolierter Rattenuterus nach Östrogenvorbehandlung, Atropinzusatz (10^{-7}) zur Badlösung. 1 = BaCl_2 (2×10^{-5}); 2 = Serotonin (2×10^{-8}); 3 = 48/80 (1×10^{-5}); 4 = 48/80 (4×10^{-4}); 5 = Adrenalin (1×10^{-7})

tionszeiten von Histamin und Serotonin durch täglich wiederholte Applikation eines konzentrierten 48/80-Aerosols signifikant verlängert (Abb. 2).

Am isolierten Rattenuterus hat 48/80 in kleinen Dosen (Konzentration im Organbad um 10^{-5}) keine Eigenwirkung. Dagegen werden die Kontraktionseffekte von Serotonin und Bariumchlorid (Abb. 3) und auch von Doryl trotz Auswaschen von 48/80 deutlich und häufig irreversibel gehemmt. In höheren Konzentrationen führt 48/80 bei erstmaliger Applikation regelmäßig nach einem Intervall von 30 bis 150 sec zu einer Kontraktion, die durch Auswaschen meist nicht verhindert wird und innerhalb von 5 min ihr Maximum erreicht. Atropinisierung und gleichzeitige Zugabe von LSD 25 zum Organbad verhindern nicht die 48/80-Wirkung. Es wird in einem Teil der Versuche eine Rückbildung der Kontraktion nach 5 bis 20 min beobachtet. Danach kann nur in vereinzelten Fällen eine erneute Kontraktion ausgelöst werden. Am häufigsten tritt eine nicht auswaschbare Kontraktur auf. Hier besitzt Adrenalin eine lytische Wirkung.

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, daß eine Vorbehandlung von Ratten und Meerschweinchen mit steigenden Dosen von 48/80 zu keiner wesentlichen Beeinflussung der Letaldosen bei diesen beiden Species führt. Es war bereits nach früheren eigenen Versuchen unwahrscheinlich, daß 48/80 seine pharmakologischen Effekte allein über eine Histamin- und Serotoninliberierung entfaltet^{21, 22}. Vor allem trifft dies für die unabhängig von der Applikationsweise auftretenden Krämpfe und den tödlichen Schock zu. Diese Reaktionen werden weder durch Entspeicherung des „endogenen“ Histamin und Serotonin^{13, 16, 17, 18} noch durch zusätzliche Prämedikation mit Histamin- und Serotoninantagonisten verhindert.

Gewisse Effekte des 48/80, wie Dyspnoe und Husten, vorwiegend nach inhalatorischer Applikation bei unvorbehandelten Tieren dürften dagegen auf Histamin- und Serotoninfreisetzung beruhen. Es konnte von anderen Autoren²⁵ nach Inhalation von 48/80-Aerosol ein Ödem der Bronchialschleimhaut beobachtet werden. Es ist zu diskutieren, ob hier Beziehungen zur Verkürzung der Histamin- und Serotoninexpositionen nach erstmaliger hochdosierter 48/80-Inhalation bestehen, wobei sich die Effekte der endogen liberierten und exogen zugeführten biogenen Amine addieren. Andererseits könnte die *Verlängerung* der Inhalationszeiten von 48/80 nach wiederholter Applikation auf einer zunehmenden Entspeicherung des gesamten Organismus an Histamin und Serotonin beruhen. Unsere Untersuchungsergebnisse stimmen gut mit Befunden von PATON¹⁷ überein, wonach die Applikation *eines* Histaminliberators die Effekte einer *zweiten* histaminfreisetzenden Substanz abschwächt.

Weshalb es nach mehrmaliger inhalatorischer Vorbehandlung mit 48/80 zu einer abgeschwächten Wirkung von Histamin und Serotonin am Respirationstrakt kommt, erscheint zunächst schwer verständlich. Eine durch wiederholte Inhalation von Histamin und/oder Serotonin bedingte Tachyphylaxie scheidet als Ursache aus (vgl. auch ²⁴). Unter bestimmten Versuchsbedingungen kann 48/80 demnach zu einer Hemmung von Histamin und Serotonin führen (vgl. ^{17, 18}). Für diese Auffassung sprechen auch unsere Versuche am isolierten Rattenuterus, wonach kleinere 48/80-Dosen zu einer Hemmung von spasmogenen Substanzen wie Serotonin, Doryl und Bariumchlorid führen, ohne eine Eigenwirkung zu entfalten. Nachdem Histamin und auch die sog. slow reacting substances⁴ am östrogenisierten Rattenuterus praktisch unwirksam sind und evtl. Effekte von Serotonin bzw. Azetylcholin durch Vorbehandlung mit LSD bzw. Atropin aufgehoben werden, ist die Uteruskontraktion nach 48/80 in höheren Konzentrationen nicht auf eine Freisetzung dieser Substanzen zurückzuführen. Es handelt sich wahrscheinlich um eine direkte Wirkung von 48/80 auf Organe mit glatter Muskulatur. Dies ist nicht verwunderlich, da die chemische Struktur von 48/80 eine gewisse Ähnlichkeit mit der von hochaktiven biogenen Aminen aufzeigt. Wie dieser direkte Effekt zustande kommt, ist noch unklar, da nach PATON^{17, 18} 48/80 die Zellpermeabilität kaum beeinflussen soll, was allerdings im Gegensatz zu den Untersuchungen von HALPERN und Mitarbeitern¹² steht.

Man muß somit annehmen, daß beim Mechanismus der Substanz 48/80, je nach Dosierung und Applikationsart, indirekte oder direkte Wirkungen im Vordergrund stehen.

Zusammenfassung

Tägliche intraperitoneale Vorbehandlung von Ratten und Meerschweinchen mit steigenden Dosen von 48/80 führt zu keiner wesentlichen Veränderung der Letaldosen bei diesen Tierspecies. Eine hochdosierte inhalatorische Vorbehandlung mit 48/80 führt zu einer deutlichen Verlängerung der Expositionszeiten gegenüber Histamin und Serotonin bei Meerschweinchen. 48/80-Vorbehandlung und zusätzliche Applikation von Histamin- und Serotoninantagonisten verhindern nicht Krampfreaktionen und Tod der Versuchstiere nach 10%iger Inhalation.

Am isolierten Rattenuterus hemmt 48/80 dosisabhängig Serotonin-, Bariumchlorid- und Doryleffekte, wobei niedrige Dosen von 48/80 zu keiner eigenen Wirkung führen, während es nach höheren Dosen zu einer Kontraktur kommt, die durch Adrenalin aufgehoben werden kann. Für den Wirkungsmechanismus der Substanz 48/80 werden je nach Applikationsart und Dosierung indirekte und direkte Effekte diskutiert.

Literatur

- ¹ BARTOSCH, R., W. FELDBERG u. E. NAGEL: Pflügers Arch. ges. Physiol. **230**, 129 (1932). — ² BODMAN, R. I.: Brit. J. Pharmacol. **7**, 409 (1952). — ³ BROCKLEHURST, W. E., and J. L. MONGAR: Communication to British Pharmacological Society. (1955). — ⁴ BROCKLEHURST, W. E.: Ciba Foundation Symposium on Histamine. S. 175. London: J. & A. Churchill Ltd. 1956. — ⁵ Kongreßberichte vom III. Internationalen Kongreß für Allergologie. Paris: Ed. Méd. Flammarion. 1958. — ⁶ FELDBERG, W., and J. TALESNIK: J. Physiol. (Lond.) **120**, 550 (1953). — ⁷ GADDUM, J. H.: J. Physiol. (Lond.) **121**, 15 P (1953). — ⁸ HAHN, F., A. LANGE u. H. GIERTZ: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. **222**, 603 (1954). — ⁹ HAHN, E., u. A. OBERDORF: Z. Immun.-Forsch. **107**, 528 (1950). — ¹⁰ HALPERN, B., et M. BRIOT: C. R. Soc. Biol. (Paris) **147**, 643 (1953); **148**, 1046 (1954). — ¹¹ HALPERN, B. N.: Ciba Foundation Symposium on Histamine. S. 92. London: J. & A. Churchill 1956. — ¹² HALPERN, B. N., M. BRIOT, D. MOUTON et J. TRUFFERT: C. R. Soc. Biol. (Paris) **149**, 1223 (1955). — ¹³ HALPERN, N.: III^{me} Congrès International d'Allergologie, Paris, 19.—26. 10. (1958). — ¹⁴ HERXHEIMER, H.: J. Physiol. (Lond.) **122**, 49 P (1953); **128**, 4 35 (1955). — ¹⁵ PATON, W. D. M.: Brit. J. Pharmacol. **6**, 499 (1951). — ¹⁶ PATON, W. D. M. and M. SCHACHTER: Brit. J. Pharmacol. **6**, 509 (1951). — ¹⁷ PATON, W. D. M.: Progr. Allergy **5**, 79 (1958). — ¹⁸ Kongreßberichte vom III. Internationalen Kongreß für Allergologie. Paris: Ed. Méd. Flammarion 1958. — ¹⁹ ROCHA E SILVA, M., S. O. ANDRADE u. R. M. TEIXEIRA: Nature (Lond.) **157**, 801 (1946). — ²⁰ ROCHA E SILVA, M.: Histamine; its Role in Anaphylaxis and Allerg. Springfield (Ill.): Charles C. Thomas. Publ. 1955. — ²¹ SCHEIFFARTH, F., L. ZICHA, M. GEMÄHLICH u. E. SCHMID: Allergie u. Asthma **4**, 80 (1958). — ²² Allergie u. Asthma **4**, 87 (1958). — ²³ SCHILD, H. O., D. F. HAWKINS, J. L. MONGAR u. H. HERXHEIMER: Lancet II **1951**, 376. — ²⁴ SCHMID, E., L. ZICHA, F. SCHEIFFARTH u. H. BÜTTNER: Arzneimittel-Forsch. (im Druck). — ²⁵ SICUTERI, F., M. RICCI et P. FRANCHI: Excerpta med. (Amst.), III^eme Congrès international d'Allergologie 19.—26. 10. Paris 1958.

Professor Dr. F. SCHEIFFARTH, Erlangen, Krankenhausstraße 12,
Medizinische Universitätsklinik

Am 30. September 1933 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Max Schmid und seiner Ehefrau Erika, geb. Schlayer, in Meckenheim / Pfalz geboren. Nach unserer Übersiedlung nach Ludwigshafen a. Rhein besuchte ich ab Ostern 1940 die Volksschule. Durch den Krieg waren wir zu verschiedenen Ortsveränderungen gezwungen. Ab 1947 besuchte ich dann das Naturwissenschaftliche Gymnasium in Ludwigshafen und legte dort im März 1953 die Reifeprüfung ab. Im Herbst 1953 immatrikulierte ich mich an der Universität in Erlangen für das Studium der Zahnmedizin. Der Abschluß meines Studiums bestand in der zahnärztlichen Prüfung, die ich am 19. August 1958 mit gutem Erfolg ablegte. Das folgende halbe Jahr widmete ich dem Abschluß meiner vorliegenden Dissertation.

